

Title	Nardilysin promotes hepatocellular carcinoma through activation of signal transducer and activator of transcription 3(Abstract_要旨)
Author(s)	Kasai, Yosuke
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-07-24
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k20607
Right	許諾条件により本文は2018-06-01に公開; This is the accepted version of the following article: Nardilysin promotes hepatocellular carcinoma through activation of signal transducer and activator of transcription 3, which has been published in final form at http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cas.13204/full .
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	笠 井 洋 祐
論文題目	Nardilysin promotes hepatocellular carcinoma through activation of signal transducer and activator of transcription 3 (ナルディライジンは STAT3 の活性化を介して肝細胞がんの進展に寄与する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】肝細胞がんはウイルス性肝炎等に由来する慢性炎症が代表的な発がん要因であるが、発がん・進展の機序は十分に解明されていない。ナルディライジン (NRDC)は M16 ファミリーに属するメタロエンドペプチダーゼであり、種々の炎症性サイトカインのシグナル伝達を活性化し、胃がんの進展および肝線維化に関与することが報告されている。今回、NRDC の肝細胞がん発がん・進展に対する関与を検討した。</p> <p>【方法】肝細胞がんに対して肝切除術を施行した 220 例について、術前血清を用いて ELISA 法で NRDC 値を測定した。悪性疾患既往のない 112 名の健常者を対照においた。肝切除検体を用いて組織中 NRDC の発現を評価した。ヘテロ接合型 NRDC ノックアウトマウスを用い、生後 14 日目にジエチルニトロサミン (DEN) 25 mg/kg を腹腔内投与し、生後 36 週での肝発がんを野生型マウスと比較した。ヒト肝細胞がん細胞株 Huh-7, Hep3B にマイクロ RNA 発現レンチウイルスベクターを導入して NRDC をノックダウンし、3 次元 spheroid 発育への影響を検討した。</p> <p>【結果】ヒト肝切除検体の抗ヒト NRDC-マウスモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学において NRDC は非がん部に比べがん部で高発現しており、ウェスタン・ブロットによる定量では中央値で 3 倍発現が上昇していた。肝細胞がん症例では健常者に比べ血清 NRDC 値は有意に上昇しており (中央値 934.1 : 539.8 pg/ml, $P < 0.001$)、がん部/非がん部の組織中 NRDC 発現比と有意な正の線形相関を示した ($r = 0.405$, $P = 0.036$)。C 型肝炎症例 (120 例)の解析において、血清 NRDC 高値症例は低値症例に比べて 3cm を超える腫瘍径の頻度が高く (73.9% : 52.7%, $P = 0.016$)、予後不良であった (生存期間中央値 32.0 : 73.9 カ月, $P = 0.003$)。DEN 誘導性マウス肝発がんモデルにおいて、ヘテロ接合型 NRDC ノックアウトマウスでは野生型マウスに比べ肉眼的腫瘍個数、最大腫瘍径ともに有意に減少していた。3 次元培養系において NRDC ノックダウンにより Huh-7, Hep3B の spheroid 発育は有意に抑制された。Huh-7 の NRDC ノックダウン細胞では signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) のリン酸化が有意に抑制されていた。Huh-7 で STAT3 のノックダウンを行ったところ、STAT3 のリン酸化は抑制され、spheroid 発育も抑制された。また、NRDC ノックダウン細胞では STAT3 特異的阻害剤 (S3I-201)に対する spheroid 発育抑制効果は減弱していた。</p> <p>【考察】肝細胞がん症例における血清 NRDC 値の上昇はがん組織中 NRDC の発現レベルを反映していることが示唆され、C 型肝炎症例において有用な予後予測マーカーとなり得ることが示された。また、肝細胞がん細胞において NRDC ノックダウンにより、spheroid 発育に対するメディエーターである STAT3 の活性化が抑制され、STAT3 に対する依存度が減少していることから、</p>			

NRDC が STAT3 の活性化を介して肝細胞がん細胞の spheroid 発育を促進することが示された。以上の結果より、NRDC が肝細胞がんの進展に重要な役割を担っていることが示唆された。
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>肝細胞がんはウイルス性肝炎等の慢性炎症が代表的な発がん要因であるが、発がん・進展の機序は十分に解明されていない。申請者は、種々の炎症性サイトカインのシグナル伝達を活性化するナルディライジン (NRDC)に着目し、肝細胞がん発がん・進展への関与を検討した。肝細胞がん切除症例の術前血清・肝切除検体を用いて血清・組織中 NRDC の発現を評価した。ヘテロ接合型 NRDC ノックアウトマウスを用い、ジエチルニトロサミン (DEN)誘導性肝発がんを検討した。ヒト肝細胞がん細胞株で NRDC をノックダウンし、3 次元 spheroid 発育への影響を検討した。肝切除検体において NRDC は非がん部に比べがん部で高発現していた。肝細胞がん症例では健常者より血清 NRDC 値は上昇しており、C 型肝炎症例では血清 NRDC 高値は予後不良因子であった。ヘテロ接合型 NRDC ノックアウトマウスでは野生型マウスに比べ DEN 誘導性肝発がんは抑制されていた。NRDC ノックダウン細胞の spheroid 発育は抑制され、STAT3 のリン酸化が抑制された。NRDC ノックダウン細胞では STAT3 特異的阻害剤に対する spheroid 発育抑制効果は減弱していた。本研究では、血清 NRDC 値は C 型肝炎症例において肝細胞がん術後の予後予測マーカーとなり得ることが示され、NRDC による肝細胞がんの進展機序として STAT3 の活性化が示された。</p> <p>以上の研究は肝細胞がん進展機序の解明に貢献し、肝細胞がんの新規予後予測マーカー・治療標的の開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 4 月 17 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 2018年 6月 1日 以降